

(19) RU (11) 2157377 (13) C1

(51) 7 C 07 H 21/00,

C 08 F 220/56, G 01 N 33/50,

C 12 Q 1/68

(21) 99115634/04

(22) July 19, 1999

(24) July 19, 1999

(46) 10.10.2000 Bull. No. 28

(72) A. D. Mirzabekov, E. N. Timofeev, V.A. Vasiliskov

(71) (73) V.A. Engel'gardt Institute of Molecular Biology, RAN

(56) 1. WO 98/39351 A, 11.09.1998. 2. US 5981734 A, 09.11.1999. 3. US 5412087 A, 02.05.1995. 4. V.A. Vasiliskov et al. A method for manufacturing microchips by using copolymerization with acrylamide. Molecular Biology. 1998, v. 32, No. 5, p. 923-925. US 5837860 A, 17.11.1998.

(98) 117984, GSP-1, Moscow, V-334, Vavilova str. 32, V.A. Engel'gardt Institute of Molecular Biology, RAN

(54) A METHOD FOR IMMOBILIZATION OF OLIGONUCLEOTIDES MODIFIED WITH UNSATURATED FRAGMENTS BY COPOLYMERIZATION.

(57) The invention refers to molecular biology and bio-technology and more specifically to a method for immobilization of modified oligonucleotides in an organic polymer gel. The invention may find an application in sequencing and mapping of DNA, genetic analysis, detection of mutations, in a medicine and other applications. There is disclosed a method for immobilization of oligonucleotides in organic polymer gels by a copolymerization process of oligonucleotides modified with unsaturated fragments with unsaturated monomers, and as a unsaturated fragment of oligonucleotide use is made of one or more groups of the general formula  $R^1R^2C=CR^3R^4$  wherein  $R^1$  and  $R^4$  represent H or alkyl  $C_1-C_3$ ;  $R^2$  is  $(CH_2)_n-OX$ , and  $R^3$  is  $(CH_2)_nOY$  where  $n = 1-6$ ; X and Y are phosphodiester groups binding an unsaturated fragments to adjacent oligonucleotide units or adjacent unsaturated fragments, or one of groups X and Y represents H atom, which fragments being inserted into oligonucleotide during the conventional phosphoramidite synthesis of oligonucleotides by using phosphoramidites of formula  $R^5R^6C=CR^7R^8$  wherein  $R^5$  and  $R^8$  are H or alkyl  $C_1-C_3$ ;  $R^6$  is  $-(CH_2)_n-O-P(OCH_2CH_2CN)(N(C_3H_7)_2)_2$ ,  $n = 1-6$ ;  $R^7$  is  $-(CH_2)_nO-DMT$ ,  $n = 2-6$  (DMT is 4,4'-dimethoxytrityl). The benefits of the invention are the following: to improve a stability of oligonucleotides, which are modified with unsaturated groups, are capable to copolymerization with acrylamide and  $N,N'$ -methylene bisacrylamide, and to realize an opportunity for inserting such reactive groups in any predetermined position of oligonucleotide chain. **3 Claims, 4 Drawings.**



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ  
к патенту Российской Федерации

(19) RU (11) 2157377 (13) C1

(51) 7 C 07 H 21/00,  
C 08 F 220/56, G 01 N 33/50,  
C 12 Q 1/68

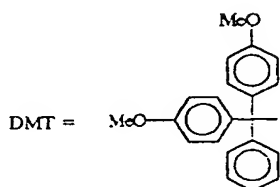
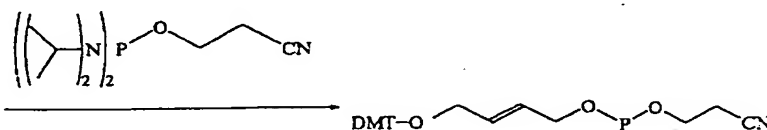
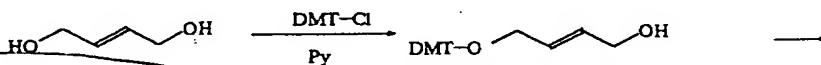
ФОНД ЭКСПЕРТОС

17 2000

Ф И П Л

(21) 99115634/04 (22) 19.07.1999  
(24) 19.07.1999  
(46) 10.10.2000 Бюл. № 28  
(72) Мирзабеков А.Д., Тимофеев Э.Н.,  
Василисков В.А.  
(71) (73) Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН  
(56) 1. WO 98/39351 A, 11.09.1998. 2. US  
5981734 A, 09.11.1999. 3. US 5412087 A,  
02.05.1995. 4. ВАСИЛИСКОВ В.А. и др.  
Метод получения микрочипов с помощью  
сополимеризации с акриламидом. Молеку-  
лярная биология. - 1998, т.32, N 5, с.923 -  
925. 5. US 5837860 A, 17.11.1998.  
(98) 117984, ГСП-1, Москва, В-334, ул.  
Вавилова 32, Институт молекулярной био-  
логии им. В.А. Энгельгардта РАН  
(54) СПОСОБ ИММОБИЛИЗАЦИИ МО-  
ДИФИЦИРОВАННЫХ НЕПРЕДЕЛЬНЫМИ  
ФРАГМЕНТАМИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ  
ПУТЕМ СОПОЛИМЕРИЗАЦИИ

(57) Изобретение относится к молекулярной  
биологии и биотехнологии, а точнее к  
способу иммобилизации олигонуклеотидов в  
органических полимерных гелях. Изобрете-  
ние может найти применение при секвени-  
ровании и картировании ДНК, в генетиче-  
ском анализе, детектировании мутаций, в  
медицине и для других приложений. описы-  
вается способ иммобилизации олигонуклео-  
тидов в органических полимерных гелях  
методом сополимеризации модифицирован-  
ных непредельными фрагментами олигонук-  
леотидов с ненасыщенными мономерами,  
причем в качестве непредельного фрагмента  
олигонуклеотида используется одна или  
несколько групп общей формулы  
 $R^1R^2C=CR^3R^4$ , где  $R^1$  и  $R^4$  - H или алкил  
 $C_1-C_3$ ;  $R^2$  -  $(CH_2)_n-O-X$  и  $R^3$  -  $(CH_2)_n-O-Y$ ,  
 $n = 1 - 6$ ; X и Y - фосфодиэфирные группы,  
связывающие непредельные фрагменты с  
соседними нуклеотидными звеньями или



Фиг. 1

RU 2157377 C1

C1

2157377

RU

BEST AVAILABLE COPY

соседними неопределёнными фрагментами, или одна из групп X или Y представляет собой атом водорода, которые вводят в олигонуклеотид в ходе стандартного фосфорамидитного олигонуклеотидного синтеза с использованием фосфорамидитов общей формулы  $R^5R^6C = CR^7R^8$ , где  $R^5$  и  $R^8$  - H или алкил  $C_1-C_3$ ;  $R^6$  -  $(CH_2)_n-O-P(OCH_2CH_2CN)(N(C_3H_7)_2)_2$ ,  $n = 1 - 6$ ;  $R^7$  -  $-(CH_2)_n-O-DMT$ ,  $n = 1 - 6$  (DMT =

4,4'-диметокситритил). Технический результат - повышение устойчивости олигонуклеотидов, модифицированных неопределёнными группами, способными к сополимеризации с акриламидом и N,N'-метиленбисакриламидом, и реализация возможности введения таких реакционноспособных групп в любое заранее заданное положение олигонуклеотидной цепи. 3 з.п. ф-лы, 4 ил.

BEST AVAILABLE COPY